

**BANCO NACIONAL DE LÍNEAS CELULARES (TRONCALES)**  
*National Bank of Stem Cell Lines*  
**IMPRESO DE SOLICITUD DE REGISTRO Y DEPÓSITO DE UNA LÍNEA iPS HUMANA**  
*Application Form to Register and Deposit of an human iPS cell line*

**FECHA:** 03-05-2018

**DOCUMENTOS QUE DEBEN ACOMPAÑAR LA SOLICITUD:**

*Attached documents:*

- Copia de la autorización del proyecto en el cual se genera la línea celular, junto con informe favorable del Comité Ético del centro de procedencia.**  
*A copy of the project authorization in which the cell line is obtained along with a favourable report of the Clinical Research Ethics Committee*
- Copia de cualquier publicación científica relacionada con la línea iPS generada.**  
*A copy of any relevant published scientific papers related to the iPS cell line generated*
- C. V. del investigador principal (una página; formato libre).**  
*A one page CV for the Principal Investigator*

**SECCIÓN 1-INFORMACIÓN DE LA MUESTRA ORIGINAL Y DE LA iPS GENERADA.**

*Section 1-Information of the original cell line and the generated iPS*

<b>Nombre de la línea iPS</b> <i>Name of the iPS line:</i>	FCE-FiPS4F7
<b>Muestra original donada. Detallar tipo de célula, tejido de origen y localización anatómica de la muestra biológica de la que se obtiene la línea original. Si son células comerciales, detallar nombre, referencia y distribuidor comercial.</b> <i>Original sample donated. Detail cell type, tissue of origin and anatomic location of the biological sample from which the original line is obtained. If cells are commercial, detail name, reference and trade distributor.</i>	Fibroblastos primarios humanos comerciales (Lonza, CC2509) obtenidos a partir de una biopsia de prepucio de neonato.  Human commercial primary fibroblasts (Lonza, CC2509) obtained from human neonatal foreskin biopsy.
<b>Sexo y edad del donante.</b> <i>Sex and age of the donor</i>	Hombre                      edad desconocida Male                              age unknown
<b>¿El donante tiene alguna patología?</b> <i>Has the donor any pathological condition?</i>	<b>NO</b> <input checked="" type="checkbox"/> <b>SÍ</b> <input type="checkbox"/> (especificar) No    Yes                      (specify)
<b>¿La patología es de origen genético?</b> <i>Is the pathological condition of genetic origin?</i>	<b>NO</b> <input checked="" type="checkbox"/> <b>SÍ</b> <input type="checkbox"/> (especificar) No    Yes                      (specify)

<b>Muestra biológica recibida</b> <i>Biological sample</i>	<b>Fresco</b> <input type="checkbox"/> <b>Crioconservado</b> <input checked="" type="checkbox"/> <i>Fresh</i> <i>Cryopreserved</i>
<b>Fecha de la donación de la muestra biológica</b> <i>Date of donation of the biological sample</i> 09/2016	<b>Fecha del uso o descongelación</b> <i>(si congelado)</i> <i>Date used or thawed (if frozen)</i> La muestra se expandió y una vez conseguidos stocks se fueron almacenando viales en nitrógeno líquido. The sample was thawed and expanded for the generation of a stock. After, several cryovials with frozen cells were stored in liquid nitrogen.
<b>Condiciones de cultivo de las células de origen (células somáticas/cultivo primario).</b> <i>Culture conditions of the original cells (somatic cells / primary culture)</i>	Los fibroblastos se han mantenido en DMEM high glucose con FBS hyclone 10%, Penicilina-Streptomocina 1X y glutamax 1X. Fibroblasts have been maintained in DMEM high glucose with FBS hyclone 10%, Penicillin-Streptomycin 1X and glutamax 1X
<b>Identificación celular: Huella genética por análisis de microsatélites/STR de las células de origen</b> <i>Cell Identity: Genetic fingerprinting by microsatellite analysis / STR of the original cells.</i>	Se ha llevado a cabo análisis de la huella genética por análisis de microsatélites/STR (ver ANEXO 1). To confirm the cell identity a DNA fingerprinting assay has been carried out (See ANNEX 1)
<b>¿Hay disponibilidad de viales congelados de las células de origen? ¿En qué pase?</b> <i>Is there availability of frozen vials of original cells? At what passage?</i>	Sí, (pase 9) Yes, (passage 9)
<b>Método utilizado en la generación de la línea iPSc. (Integrativa/ No-integrativa) Especificar factores y plásmidos de reprogramación utilizados.</b> <i>Method used for the generation of iPSC line (Integrative / Non-integrative) Specify factors and plasmids used for reprogramming</i>	Metodología no integrativa que implica el uso de virus Sendai (CytoTune-iPS 2.0 Sendai reprogramming kit). Se han utilizado los factores de reprogramación Oct3/4, Sox2, Klf4 y cMyc. Non integrative methodology that involves the use of Sendai virus (CytoTune-iPS 2.0 Sendai reprogramming kit, Invitrogen). Oct3/4, Sox2, Klf4 y cMyc have been used as reprogramming factors
<b>Condiciones de cultivo de la línea de iPSc generada. (si se describen en publicación, indicar referencia)</b> <i>iPSC Culture conditions (if they are described in a publication, please indicate the reference)</i>	Se han seguido las condiciones de cultivo descritas por Raya A et al. Nature protocols 2010; 5(4): 647-60. Culture conditions are described in detail by Raya A et al. Nature protocols 2010; 5(4): 647-60.
<b>Descripción de las características morfológicas de la línea en cultivo (forma y tamaño colonias; forma y tamaño células; ratio núcleo/citoplasma; otros)</b> <i>Description of the morphological characteristics of the line in culture (form and size of the colonies; form and size of the</i>	Las iPSc generadas presentan características morfológicas típicas de células ES (elevada relación núcleo/citoplasma) (Ver ANEXO 1). The generated iPSCs present a typical ES cell colony morphology (high ratio nucleus/cytoplasm) (see ANNEX 1)

<p>cells; nucleus/cytoplasm ratio; others)</p>	
<p><b>Criopreservación de la línea celular (Describir método de congelación/descongelación)</b>  <i>Cryopreservation of the cell line (Describe freezing / thawing method)</i></p>	<p>Se ha seguido el protocolo descrito en el "CytoTune-iPS 2.0 Sendai reprogramming kit"</p> <p>For cryopreserving the iPSC cells the protocol described in the manual of the "CytoTune-iPS 2.0 Sendai reprogramming kit" has been followed.</p>
<p><b>Pase de la línea celular en el momento del banqueo/registro. (Máximo: Pase 15)</b>  <i>Passage at the time of the banking/registration (Max: Passage 15)</i></p>	<p>Hay iPSCs congeladas en distintos tiempos (pase 8)</p> <p>Several iPSCs stocks freezed at different moments and passages are available (passage 8)</p>
<p><b>¿Ha sido la línea modificada genéticamente?</b>  <i>Has the line been genetically modified?</i>  <b>Sí Yes</b> <input type="checkbox"/> <b>No No</b> <input checked="" type="checkbox"/></p> <p><b>Comentarios/ Comments:</b></p>	<p><b>¿Se llevó a cabo un análisis clonal?</b>  <i>Has a clonal analysis been carried out?</i>  <b>Sí/ Yes</b> <input type="checkbox"/> <b>No</b> <input checked="" type="checkbox"/> <b>Resultado / Result</b></p>

## SECCIÓN 2 RESULTADOS DE LA CARACTERIZACIÓN DE LA LÍNEA iPS.

Adjuntar resultados (imágenes o gráficos) como anexo

Section 2 iPS Cell Line characterization results. Attach results (images and graphics) as an annex

<p><b>Test de pluripotencia</b> <i>Pluripotency test</i></p>	<p><b>Método</b> <i>Method</i></p>		<p><b>Nº pase</b> <i>Passage n.</i></p>	<p><b>Resultado</b> <i>Results</i></p>	<p><b>Comentarios</b> <i>Comments</i></p>	
	Oct 4		RNA/proteína	20	+	
	Nanog		RNA/proteína	20	+	
	Sox 2		RNA/proteína	20	+	
	SSEA3		proteína	20	+	
	SSEA4		proteína	20	+	
	TRA-1-60		proteína	20	+	
	TRA-1-81		proteína	20	+	
	Fosfatasa. Alk		proteína	20	+	
<p><b>Test de diferenciación in vitro</b> <i>In vitro differentiation test</i></p>	<p><b>Comentarios</b></p>	<p><b>Método</b> <i>Method</i></p>	<p><b>Marcador</b> <i>Marker</i></p>	<p><b>Nº pase</b> <i>Passage n</i></p>	<p><b>Resultado</b> <i>Results</i></p>	<p><b>Comentarios</b> <i>Comments</i></p>
	Ectodermo <i>Ectoderm</i>	Proteína	TUJ1	20	+	
	Mesodermo <i>Mesoderm</i>	Proteína	SMA	20	+	
	Endoderm <i>Endoderm</i>	Proteína	AFP	20	+	
<p><b>Descripción de las características de diferenciación <i>in vitro</i></b> <i>(espontánea/inducida)</i></p> <p><i>Description of the differentiation characteristics in vitro (spontaneous/induced)</i></p>	<p>Espontánea (a las tres capas embrionarias, ver ANEXO 1)</p> <p>Spontaneous differentiation into the three germ layers, see ANNEX 1)</p>					

<p><b>Test de diferenciación in vivo</b> <i>In vivo differentiation test</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="432 152 751 219"><b>Método</b></th> <th data-bbox="751 152 911 219"><b>Marcador</b></th> <th data-bbox="911 152 1070 219"><b>Nº pase</b></th> <th data-bbox="1070 152 1444 219"><b>Resultado</b></th> </tr> <tr> <td data-bbox="432 219 751 286"><b>Comentarios</b></td> <td data-bbox="751 219 911 286"><i>Method</i></td> <td data-bbox="911 219 1070 286"><i>Marker</i></td> <td data-bbox="1070 219 1444 286"><i>Passage n</i></td> </tr> <tr> <td data-bbox="432 286 751 353"></td> <td data-bbox="751 286 911 353"></td> <td data-bbox="911 286 1070 353"></td> <td data-bbox="1070 286 1444 353"><i>Results</i></td> </tr> <tr> <td data-bbox="432 353 751 421"></td> <td data-bbox="751 353 911 421"></td> <td data-bbox="911 353 1070 421"></td> <td data-bbox="1070 353 1444 421"><i>Comments</i></td> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="432 421 751 488"><b>Ectodermo</b></td> <td data-bbox="751 421 911 488"></td> <td data-bbox="911 421 1070 488"></td> <td data-bbox="1070 421 1444 488"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="432 488 751 555"><i>Ectoderm</i></td> <td data-bbox="751 488 911 555"></td> <td data-bbox="911 488 1070 555"></td> <td data-bbox="1070 488 1444 555"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="432 555 751 622"><b>Mesodermo</b></td> <td data-bbox="751 555 911 622"></td> <td data-bbox="911 555 1070 622"></td> <td data-bbox="1070 555 1444 622"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="432 622 751 689"><i>Mesoderm</i></td> <td data-bbox="751 622 911 689"></td> <td data-bbox="911 622 1070 689"></td> <td data-bbox="1070 622 1444 689"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="432 689 751 757"><b>Endodermo</b></td> <td data-bbox="751 689 911 757"></td> <td data-bbox="911 689 1070 757"></td> <td data-bbox="1070 689 1444 757"></td> </tr> <tr> <td data-bbox="432 757 751 824"><i>Endoderm</i></td> <td data-bbox="751 757 911 824"></td> <td data-bbox="911 757 1070 824"></td> <td data-bbox="1070 757 1444 824"></td> </tr> </tbody> </table>	<b>Método</b>	<b>Marcador</b>	<b>Nº pase</b>	<b>Resultado</b>	<b>Comentarios</b>	<i>Method</i>	<i>Marker</i>	<i>Passage n</i>				<i>Results</i>				<i>Comments</i>	<b>Ectodermo</b>				<i>Ectoderm</i>				<b>Mesodermo</b>				<i>Mesoderm</i>				<b>Endodermo</b>				<i>Endoderm</i>			
<b>Método</b>	<b>Marcador</b>	<b>Nº pase</b>	<b>Resultado</b>																																						
<b>Comentarios</b>	<i>Method</i>	<i>Marker</i>	<i>Passage n</i>																																						
			<i>Results</i>																																						
			<i>Comments</i>																																						
<b>Ectodermo</b>																																									
<i>Ectoderm</i>																																									
<b>Mesodermo</b>																																									
<i>Mesoderm</i>																																									
<b>Endodermo</b>																																									
<i>Endoderm</i>																																									
<p><b>Descripción de las características de diferenciación <i>in vivo</i></b> <i>Description of the differentiation characteristics in vivo</i></p>	<p>No se ha llevado a cabo por considerarse un ensayo que ya no es necesario para demostrar la pluripotencialidad de las células.</p> <p>This assay has not been carried out. At this moment it is considered that this assay is not essential to demonstrate the pluripotency of the cells.</p>																																								
<p><b>Cariotipo (especificar fórmula cariotípica y pase)</b> <i>Karyotype (Specify karyotype formula and passage)</i></p>	<p>Pase 20, mosaico 46, XY(28)/47XYY (2) Ver ANEXO 1</p> <p>Passage 20, 46, XY (28)/47XYY (2) mosaicism See ANNEX 1</p>																																								
<p><b>Identificación celular: Huella genética por análisis de microsatélites/STR de la línea celular</b> <i>Cell Identity: Genetic fingerprinting by microsatellite analysis / STR of the cell line</i></p>	<p>Se ha llevado a cabo análisis de la huella genética por análisis de microsatélites/STR (ver ANEXO 1).</p> <p>To confirm the cell identity a DNA fingerprinting assay has been carried out (See ANNEX 1)</p>																																								
<p><b>Test de integración (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular)</b> <i>Integration Test (specify method depending on cell reprogramming)</i></p>	<p>Los genes no se integran porque se ha utilizado una metodología NO integrativa (virus Sendai)</p> <p>Genes do not integrate. A non-integrative methodology that involves the use of Sendai virus has been used</p>																																								

<p><b>Test de silenciamiento (detallar método utilizado según tipo de reprogramación celular)</b>  <i>Silencing Test (specify method used depending on cell reprogramming)</i></p>	<p>Mostramos por RT-PCR la eliminación de los vectores y factores de reprogramación exógenos (ver ANEXO 1)</p> <p>We confirmed the clearance of the vectors and the exogenous reprogramming factor genes by RT-PCR (see ANNEX 1)</p>
<p><b>Confirmación del diagnóstico genotípico en las iPSC generadas a partir de muestras con mutación genética</b>  <i>Confirmation of genotypic diagnosis of the cell line generated from samples with genetic mutation</i></p>	<p>La identificación mediante secuenciación Sanger de las variantes en la secuencia del mtDNA, m.10400C and m.3594 T muestran que la línea de iPSCs IISHDOI002-A pertenece al haplogrupo africano L3 (ver ANEXO 1)</p> <p>The identification of the mtDNA nucleotide variations m.10400C and m.3594 T using Sanger sequencing showed that fibroblasts and the generated iPSC line IISHDOI002-A belong to the African mitochondrial haplogroup L3 (see ANNEX 1)</p>
<p><b>Test de micoplasma</b>  <b><i>Mycoplasma Test</i></b></p>	<p>Las células son micoplasma negativas por PCR.</p> <p>iPSC cells have been confirmed mycoplasma-free by PCR</p>

### SECCIÓN 3 DATOS DEL DEPOSITANTE

*Section 3 Applicant Details*

<p><b>Investigador Principal:</b>  <i>Principal Investigator:</i>  RAFAEL GARESSE ALARCÓN</p>	<p><b>Dirección Postal:</b>  <i>Postal address:</i>  Avda. Arzobispo Morcillo nº 4</p>
<p><b>Centro de Trabajo:</b>  <i>Institution:</i>  Instituto de Investigaciones Biomédicas Alberto Sols  Facultad de Medicina, UAM-CSIC.</p>	<p><b>Teléfono (phone):</b> 91-497-54-52</p> <p><b>Fax:</b> 91 585-44-01</p> <p><b>E-mail:</b> egallardo@iib.uam.es</p>

## **SECCIÓN 4      INFORMACIÓN ADICIONAL (OPCIONAL)**

*Section 4      Additional information (optional)*

**Otras observaciones o información relevantes** (a juicio del Investigador Principal):

Other observations or relevant information (to the discretion of the Principal Investigator):

**Otras observaciones o información relevantes** (a rellenar por el BNLC):

Other comments or relevant information (to be completed by BNLC)

**Seguimiento de la línea** (a rellenar por el BNLC):

Follow up of the line (to be completed by BNLC)

## SECCIÓN 5 DECLARACIÓN

**Confirmo que la información contenida en estos impresos es cierta y asumo total responsabilidad sobre la misma.**

*I confirm that the information contained in this form is true and I assume total responsibility for it.*

<p><b>Firma en Representación del Centro / Signature in Representation of the Centre</b> <i>(Representante legal del Departamento/Centro)</i> <i>Legal Representative of the Department/Centre</i></p> <p>Dr. José Manuel González Sancho</p>  <p>Fecha /Date: 05-2018</p>	<p><b>Firma del Investigador Principal</b> <i>Signature of the Principal Investigator</i></p> <p>RAFAEL GARESSE ALARCÓN</p>  <p>Fecha /Date 05-2018</p>
<p><b>Nombre y Cargo de la Persona Representante del Centro:</b> <i>Name and Position of the Person Representing the Centre:</i> José Manuel González Sancho (Vicerrector de la UAM)</p>	
<p><b>Dirección Postal:</b> <i>Postal Address:</i></p> <p>C/. Einstein 3, 28049-Madrid</p>	<p><b>Teléfono /Telephone:</b> 91-497-40-08</p> <p><b>Fax:</b> 91-497-67-55</p> <p><b>E-mail:</b> vicerrectorado.investigacion@uam.es</p>